

Importância do Endotélio na Doença Arterial Coronária e na Aterogênese

Michel Batlouni, José Antonio F. Ramires
São Paulo, SP

O endotélio vascular, camada monocelular que reveste a superfície luminal de todos os vasos sanguíneos, constitui uma interface estrategicamente situada entre a circulação e a parede vascular. O organismo humano contém aproximadamente 10^{12} células endoteliais, que ocupam área maior do que 1.500m^2 e pesam cerca de 2kg ^{1,2}.

Os conhecimentos acumulados nos últimos 15 anos, sobretudo no campo da biologia molecular e celular, evidenciaram que o endotélio não é apenas uma barreira de difusão que controla a permeabilidade entre o sangue circulante, a parede vascular e o tecido intersticial, porém exerce uma grande variedade de funções biológicas. O endotélio intacto provê uma interface não trombogênica entre o vaso e os componentes sanguíneos, mantém a fluidez do sangue e modula a vasomotricidade, ajustando o calibre dos vasos às constantes alterações hemodinâmicas e humorais locais e a própria estrutura vascular. Sua integridade é, pois, essencial à regulação do fluxo sanguíneo e à proteção contra espasmo e trombose. Local ativo de síntese, o endotélio pode ser considerado o maior órgão parácrino do organismo humano, que responde a vários estímulos, produzindo e secretando localmente um grande número de compostos metabolicamente ativos, além de modular ou inibir os efeitos de substâncias circulantes³⁻⁸.

Entre as múltiplas funções biológicas do endotélio incluem-se^{1,3,5,7,9,10}:

1. Barreira seletivamente permeável contra a migração para o interior da parede vascular de certas espécies moleculares e componentes celulares, provendo um ambiente altamente controlado.
2. Síntese de substâncias vasodilatadoras e antiplaquetárias: fator de relaxamento dependente do endotélio (EDRF), fator de hiperpolarização dependente do endotélio (EDHF), prostaglandina (PG) E_2 , prostaciclina e adenosina.
3. Síntese de substâncias vasoconstrictoras e ativadoras da agregação plaquetária: fatores de contração derivados do endotélio - endotelinas, endoperóxidos, leucotrienos.
4. Receptor-moderador de substâncias vasoativas e

envolvidas na agregação plaquetária e coagulação: acetilcolina, serotonina, trombina, nucleotídeos da adenosina, bradicinina, vasopressina, ácido araquidônico.

5. Metabolismo e inativação de catecolaminas e serotonina (via monoamino-oxidase), outros produtos plaquetários e angiotensina II (angiotensinas A e C).

6. Produção de fatores antitrombogênicos: glicosaminoglicans, heparan-sulfato, trombospondina, proteína S; e fibrinolíticos: ativador tissular do plasminogênio (t-PA) e uroquinase.

7. Produção de fatores trombogênicos: colágeno, fibronectina, tromboplastina tissular, trombospondina, fator de von Willebrand (vW), fator ativador de plaquetas (PAF), fator V; fixação dos fatores IXa e Xa; atividade protrombinase; síntese de inibidores da fibrinólise: inibidor do t-PA.

8. Secreção de fatores mitogênicos, bem como de inibidores do crescimento.

9. Metabolismo e clearance das lipoproteínas (fig. 1)

Regulação do Tônus Vascular

O endotélio desempenha importante efeito regulador ou modelador do tônus vascular, inclusive das artérias coronárias e, conseqüentemente da perfusão tissular, funcionando como sensor das alterações hemodinâmicas e sinais humorais ou estímulos químicos da corrente sanguínea e transmitindo-os às células musculares lisas subjacentes^{3-6,11-13}. Para isto, o endotélio intacto modula a ação de substâncias vasoativas produzidas localmente ou circulantes, metaboliza e inativa substâncias vasopres-

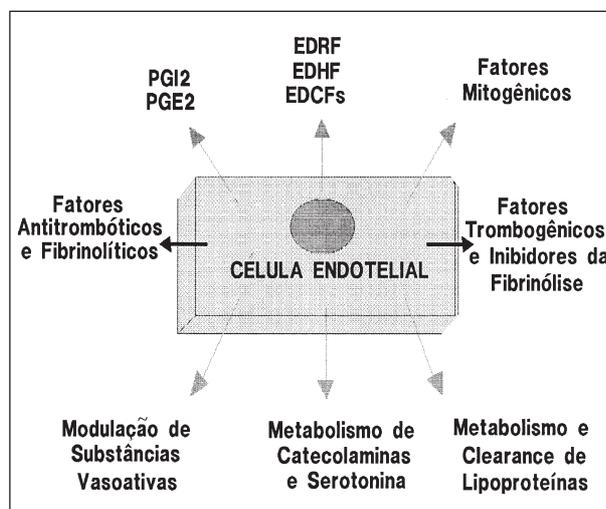


Fig. 1 - Principais funções das células endoteliais.

Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia - São Paulo
Correspondência: Michel Batlouni - Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia
Av. Dr. Dante Pazzanese, 500 - CEP 04012-180 - São Paulo, SP
Recebido para publicação em 10/1/94
Aceito em 9/2/94

soras e secreta substâncias vasodilatadoras e vasoconstrictoras.

Admite-se atualmente que as interações e a potência relativa dos mediadores vasodilatadores e vasoconstrictores dependentes do endotélio sejam fundamentais na regulação do fluxo coronário e da perfusão tissular, momento a momento, tanto em condições fisiológicas como patológicas. Normalmente, o balanço entre esses fatores permite adaptações imediatas às diferentes necessidades do fluxo sanguíneo local.

1. Prostaciclina

A prostaciclina (PGI_2) é um eicosanóide bicíclico derivado do ácido araquidônico, que é liberado dos fosfolípides da membrana endotelial por fosfolipases ativadas, A_2 e C . A fosfolipase C é responsável pela rápida produção de inositol trifosfato (IP3) e acompanha-se da mobilização de Ca^{++} de seus depósitos intracelulares para o citosol. A liberação de ácido araquidônico é estimulado por uma série de fatores, incluindo estresse parietal, hipóxia, bradicinina, histamina, trombina, nucleotídeos da adenosina. Por ação da enzima ciclooxigenase, o ácido araquidônico produz o endoperóxido cíclico PGG_2 . A PGG_2 , por ação da PGG_2 peroxidase, também conhecida como PGH_2 sintetase, que utiliza uma variedade de compostos como fonte de elétrons, dá origem a outro endoperóxido cíclico, a PGH_2 . Durante esta reação, há formação de radicais livres. A PGH_2 , por sua vez, por ação da prostaciclina sintetase, origina nas células endoteliais a PGI_2 , ou prostaciclina^{14,15} (fig. 2). A prostaciclina sintetase é abundante na íntima e sua concentração di-

minui progressivamente, dessa camada para a adventícia. Ademais, as células endoteliais podem utilizar PGG_2 e PGH_2 derivadas das plaquetas para sintetizar a prostaciclina¹⁶.

A prostaciclina tem vida média de 2 a 3min no sangue, a $37^\circ C$, e é convertida, por hidrólise não enzimática, em 6-ceto- $PGF_{1-\alpha}$ estável. A prostaciclina é um potente vasodilatador e inibidor da agregação plaquetária. Seus efeitos são mediados pela elevação da concentração do monofosfato de adenosina (AMP) cíclico, através da estimulação da adenilato ciclase, nas células musculares lisas e plaquetas, respectivamente¹⁵.

As plaquetas que aderem aos locais de lesão vascular liberam endoperóxidos e tromboxane (TX) A_2 , que promovem agregação plaquetária, mas também potencializam a síntese de prostaciclina pela parede vascular. Assim, o processo de agregação plaquetária e trombose tende a ser limitado ou prevenido. O equilíbrio do sistema prostaciclina-TXA₂ parece desempenhar importante papel na tromboaterogênese, em presença de determinados fatores de risco.

Pequenas quantidades de prostaglandinas estáveis, como PGD_2 , PGE_2 e $PGF_{2-\alpha}$ são formadas por via não enzimática, a partir dos endoperóxidos cíclicos.

2. Fator(es) de Relaxamento Dependente(s) do Endotélio

Uma das mais importantes contribuições à fisiologia vascular moderna foi a descoberta acidental e pioneira, em 1980, por Furchgott e Zawadzki, de que o efeito vasodilatador da acetilcolina na aorta de cobaias era me-

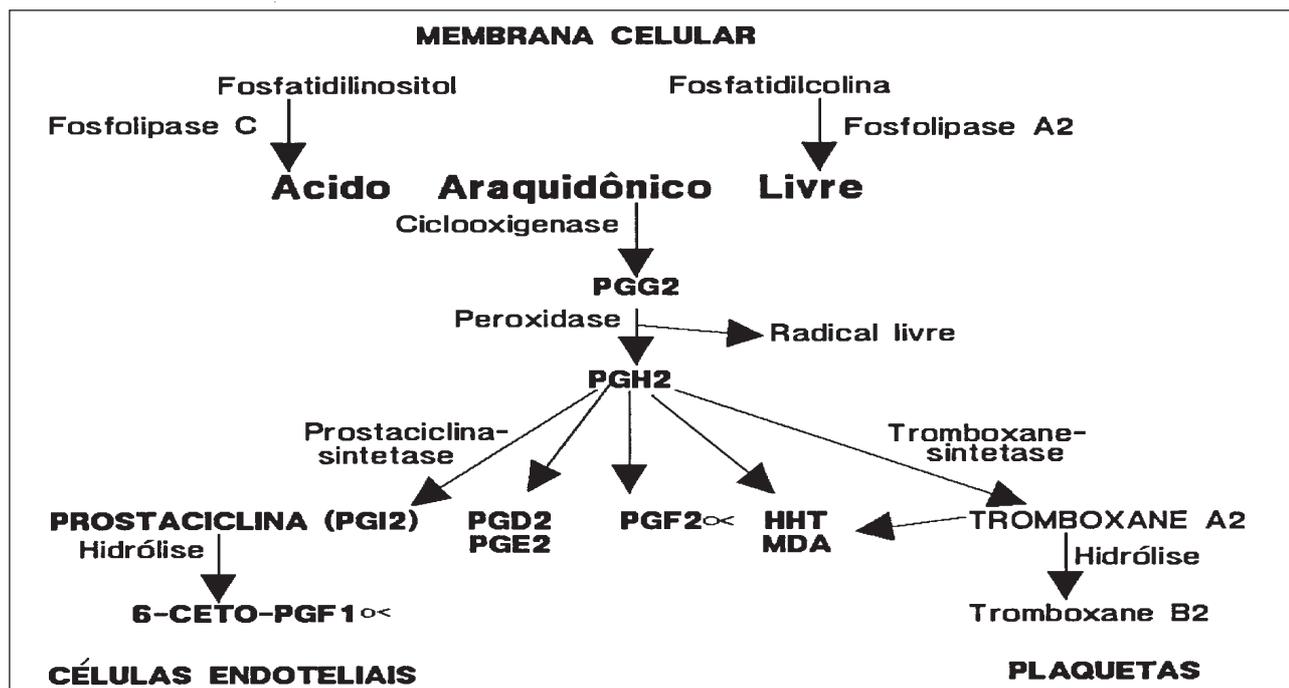


Fig. 2 - Ativação da cascata do ácido araquidônico.

diado indiretamente por uma substância liberada de células endoteliais¹⁷. Demonstrou-se, a seguir, que a remoção (v.g, por fricção) do endotélio das preparações vasculares *in vitro* prevenia a ação relaxante da acetilcolina¹⁸.

Essa substância foi designada, posteriormente, “fator de relaxamento dependente do endotélio” (EDRF) e forneceu uma explicação satisfatória para o aparente paradoxo relacionado às respostas vasculares *in vivo* e *in vitro* à acetilcolina e histamina. Ambos os agentes atuam como relaxantes dose-dependentes da musculatura lisa vascular *in vivo*, porém causam vasoconstricção *in vitro*, quando as células endoteliais são removidas durante a secção e preparação do vaso¹⁹. A acetilcolina e outras substâncias vasoativas, designadas vasodilatadores dependentes do endotélio, requerem a integridade funcional das células endoteliais para a produção de relaxamento arterial.

Supôs-se, inicialmente, que o EDRF fosse a própria prostaciclina ou outro prostanóide derivado do metabolismo do ácido araquidônico. Entretanto, essa hipótese foi logo descartada ao verificar-se que a resposta vasodilatadora não era bloqueada pelos inibidores da ciclooxigenase^{18,19}. As grandes semelhanças nos mecanismos de relaxamento da musculatura lisa vascular causadas pelo EDRF e pelos nitratos vasodilatadores, cujo metabólito final é o óxido nítrico (NO), bem como nos mecanismos de inibição de ambas as substâncias²⁰, sugeriram que o EDRF fosse o próprio óxido nítrico, ou uma substância da qual o óxido nítrico fosse imediatamente liberado. Evidências consistentes em apoio a essa hipótese foram fornecidas por estudos com espectrofotometria²¹ e quimioluminescência²².

Recentemente, aventou-se a possibilidade de que o EDRF não seja o óxido nítrico livre, porém um nitrosotiol mais estável, a S-nitrosocisteína, que se dissociaria na membrana das células musculares lisas vasculares, com formação de óxido nítrico²³. Portanto, pode-se considerar que o EDRF, ou pelo menos um deles, seja um análogo endógeno de nitratos vasodilatadores.

Mecanismo de Ação - À semelhança dos nitratos vasodilatadores, o EDRF causa dilatação da musculatura lisa vascular, estimulando a guanilato ciclase solúvel, com o conseqüente aumento dos níveis intracelulares do monofosfato de guanosina (GMP) cíclico e ativação da proteína quinase dependente do GMPc^{24,25}. A elevação do GMP cíclico reduz o influxo de Ca⁺⁺ através do sarcolema, bem como a liberação de Ca⁺⁺ de seus depósitos intracelulares, aumentando o seqüestro do íon. É provável ainda que o GMP cíclico iniba especificamente o turnover de inosítídeos induzido por agonistas, reduzindo a produção de inositol trifosfato (IP₃) e a concentração de Ca⁺⁺ citosólico e, simultaneamente, a produção de diacilglicerol (DAG), importante intermediário na ativação da proteína quinase²⁶.

As ações do EDRF/NO são inibidas pela hemoglobina, através de interação direta (seqüestro)²²; pelo azul de metileno, que bloqueia a estimulação da guanilato-

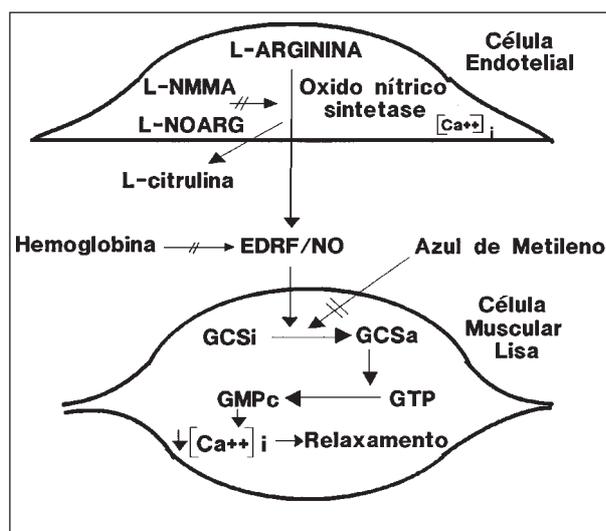


Fig. 3 - Síntese do fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF/NO) e locais de bloqueio de sua produção e ação.

ciclase e o conseqüente aumento do GMP cíclico²⁷; e por geradores de radicais superóxido²⁸ (fig. 3). E são potencializadas pela superóxido dismutase, um removedor de radicais superóxido²⁸.

Síntese - O EDRF/NO é sintetizado a partir da oxidação da L-arginina, reação mediada pela enzima óxido nítrico-sintetase cálcio-dependente, com formação simultânea de L-citrulina²⁹. A importância da L-arginina como precursor imediato do EDRF é comprovada pelo bloqueio da produção desse fator por análogos da arginina, como a Ng-monometil-L-arginina (L-NMMA), forma metilada, e Ng-nitro-L-arginina (L-NOARG), forma nítrica, muito mais potente, que são bloqueadores da óxido nítrico sintetase²⁹ (fig. 3). Ademais, como essa inibição ocorre por competição, a adição de grande quantidade de L-arginina reverte o bloqueio da enzima³⁰.

Em vasos normais, parece haver quantidade suficiente do substrato para conversão máxima em óxido nítrico, uma vez que L-arginina é regenerada endogenamente a partir de outros aminoácidos e a adição de L-arginina exógena não aumenta o relaxamento dependente do endotélio nessa circunstância^{30,31}. Entretanto, em determinadas condições experimentais, a administração de L-arginina pode ser crítica para a restauração da resposta endotelial. Células endoteliais em meio de cultura deficiente em arginina liberam apenas pequena quantidade de EDRF, até que o substrato seja adicionado²⁹. Análogos estruturais da L-arginina inibem o relaxamento dependente do endotélio e essa inibição é revertida pela L-arginina exógena^{30,31}. Recentemente, Cooke e col³² demonstraram que a administração endovenosa de L-arginina (0,1 a 3mM) normalizou agudamente o relaxamento dependente do endotélio na aorta torácica de cobaias hipercolesterolêmicas, sugerindo que a hipercolesterolemia induz à redução reversível da disponibilidade ou metabolismo da L-arginina. Mais recentemente, Dubois-Randé e col³³ demonstraram que a administra-

ção intracoronária de L-arginina, em pacientes com aterosclerose difusa não-obstrutiva da artéria descendente anterior, aliviou a ação vasoconstrictora da acetilcolina, sugerindo melhora do relaxamento dependente do endotélio em artérias coronárias humanas.

As ações do EDRF assemelham-se às da prostaciclina. Ambos são potentes vasodilatadores e inibidores da ativação plaquetária^{1,4,5,7,34}. Entretanto, a meia-vida do EDRF é muito curta, da ordem de segundos, enquanto a da prostaciclina é da ordem de minutos; as ações do EDRF são mediadas pelo GMP cíclico e as da prostaciclina pelo AMP cíclico. Os efeitos vasodilatadores e antiplaquetários de ambos os compostos são nitidamente sinérgicos, constituindo importante proteção contra o espasmo e barreira antitrombogênica na superfície luminal do endotélio intacto³⁴.

Secreção e Liberação - O EDRF é liberado em condições basais pelas células endoteliais, mantendo a vasculatura em estado de dilatação, e através de estimulação. Uma grande variedade de estímulos fisiológicos e substâncias vasoativas pode provocar a liberação de EDRF. Entre os primeiros incluem-se as alterações do fluxo sanguíneo, do estresse parietal (cisalhamento) e da tensão de oxigênio.

Quando o fluxo sanguíneo aumenta nas grandes artérias, ocorre dilatação induzida por estimulação dos receptores de tensão da membrana das células endoteliais e aumento da liberação de EDRF fluxo-dependente^{6,35}. Essa vasodilatação fluxo-dependente é provavelmente de crucial importância na circulação coronária, para perfusão sanguínea miocárdica ótima durante o exercício, quando o fluxo coronário pode aumentar até 4 a 6 vezes, para suprir as demandas miocárdicas de oxigênio. As alterações do diâmetro das artérias coronárias induzidas pelo fluxo sanguíneo são dependentes do endotélio, que as monitoriza continuamente, pois são inibidas pela desnudação endotelial³⁶. A prostaciclina contribui à regulação do tônus arterial coronário, porém não parece desempenhar papel significativo no controle da vasodilatação fluxo-dependente⁵. Mecanismos adicionais, como estimulação β -adrenérgica, metabólitos vasodilatadores e aumento da pressão de perfusão participam provavelmente da vasodilatação das artérias normais com o exercício³⁷.

O aumento do estresse parietal arterial (*shear stress* ou estresse de cisalhamento) - relação força/unidade de área que atua na superfície endotelial ou luminal do vaso, como resultado do fluxo sanguíneo - estimula a liberação de EDRF e ativa os canais de potássio, iniciando a hiperpolarização³⁸. Esse efeito pode ter importância no mecanismo sensor do fluxo pelas células endoteliais⁵.

As células endoteliais funcionam também como sensores de oxigênio e contribuem, dentro das variações fisiológicas da tensão de oxigênio, à regulação local do fluxo sanguíneo, pela liberação concomitante de EDRF, prostaciclina e PGE_2 ^{5,39,39a}.

Entre as diversas substâncias que induzem à libera-

ção de EDRF incluem-se neurotransmissores e hormônios - acetilcolina, noradrenalina e vasopressina - mediadores locais - bradicinina, histamina e substância P - e compostos liberados ou gerados durante a agregação plaquetária e formação do trombo - nucleotídeos da adenosina (ADP, ATP), serotonina e trombina^{3-6,39}.

A resposta induzida pela acetilcolina é o exemplo mais clássico do relaxamento dependente do endotélio em artérias isoladas^{17,18}. Quando a função endotelial está preservada, a acetilcolina, atuando em receptores muscarínicos da membrana endotelial, estimula a liberação de EDRF pelas células endoteliais e provoca relaxamento das células musculares lisas vasculares. Em presença de disfunção endotelial, a acetilcolina não induz à vasodilatação e pode provocar vasoconstricção devido à falta de liberação de EDRF⁴⁰⁻⁴². Assim, a acetilcolina exerce duas ações, distintas e opostas, nos vasos sanguíneos: constricção direta da musculatura lisa vascular e vasodilatação indireta mediada pelo endotélio.

A noradrenalina circulante induz à vasodilatação das artérias coronárias, através da estimulação de receptores α_2 -adrenérgicos nas células endoteliais e também pela mediação de receptores β_2 nas células musculares lisas, as quais contrabalançam o efeito vasoconstrictor coronário direto, através da estimulação de receptores α -adrenérgicos nas células musculares lisas⁴³.

Os efeitos vasculares causados pelas plaquetas agregadas são a resultante final de ações induzidas pelas substâncias liberadas durante a agregação e suas interações. Em vasos normais, a contração independente do endotélio causada primordialmente pelo TXA_2 e serotonina, mediada por receptores 5-HT₂ (S2) das células musculares lisas, é contrabalançada pela potente vasodilatação dependente do endotélio induzida pelo ADP e ATP, mediada por receptores P2-gama e, também, pela serotonina, mediada por receptores serotoninérgicos 5-HT₁, ambos das células endoteliais⁴⁴⁻⁴⁶. A própria trombina, formada durante o processo de coagulação, provoca também relaxamento endotélio-dependente em várias artérias, inclusive coronárias, mediado por receptores T específicos.

Modulação do Tônus Arteriolar Coronário - Experimentos com preparações isoladas de coração e em cães não anestesiados, demonstraram que a administração de análogos de arginina biologicamente inertes, como L-NOARG e L-NMMA, causa aumento imediato do tônus arteriolar, com redução da perfusão miocárdica⁴⁷. Nesses experimentos, há liberação aumentada de lactato dos corações parcialmente isquêmicos, indicando que a estimulação metabólica e a liberação de metabólitos vasodilatadores não foi suficiente para compensar adequadamente a supressão da atividade dilatadora contínua dependente do endotélio. Esses achados sugerem que o controle do tônus arteriolar dependente do endotélio possa ser tão importante quanto a regulação metabólica local e que a disfunção endotelial seja responsável por inadequada regulação da perfusão miocárdica^{6,48}.

3. Fator Hiperpolarizante Derivado do Endotélio

Alguns estudos, sobretudo eletrofisiológicos, demonstraram a existência de um outro fator de relaxamento produzido pelo endotélio. Em várias artérias, inclusive as coronárias, a acetilcolina provoca hiperpolarização transitória das células musculares lisas vasculares, devido a um fator difusível - fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) - quimicamente diferente do óxido nítrico⁴⁹. A atividade relaxante do EDHF não é bloqueada pelos inibidores da ação do óxido nítrico, nem se acompanha de elevação do GMP cíclico nas células musculares lisas. A hiperpolarização, fenômeno correlato ao relaxamento, é devida à ativação da bomba Na^+/K^+ , ou de canais de potássio ATP-sensíveis na membrana das células musculares lisas vasculares^{13,49,50}. Os efeitos do EDHF são limitados à fase inicial da resposta de relaxamento induzida pela acetilcolina, enquanto a maior intensidade do efeito é causada pelo EDHF⁵.

4. Fatores de Contração Derivados do Endotélio

O endotélio sintetiza também substâncias vasoconstritoras, pertencentes a três grupos diferentes, pelo menos, designadas fatores de contração derivados do endotélio (EDCFs).

O EDCF_1 parece ser um eicosanóide vasoconstrictor derivado da via da ciclooxigenase. Respostas vasoconstritoras atribuídas a eicosanóides, embora inibidas por bloqueadores dos receptores de $\text{TXA}_2/\text{PGH}_2$, não são afetadas por inibidores de tromboxane-sintetase. De outra parte, experimentos em anéis isolados de aorta torácica de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) comprovaram o envolvimento dos receptores de $\text{TXA}_2/\text{PGH}_2$ nas contrações endotélio-dependentes provocadas pela acetilcolina, sugerindo que o eicosanóide responsável não seja o TXA_2 , porém uma substância intimamente relacionada, provavelmente a PGH_2 ^{51,52}.

Postulou-se também que radicais livres de oxigênio gerados pela atividade da ciclooxigenase endotelial seriam os representantes do EDCF_1 . Entre as evidências que apóiam essa hipótese incluem-se: a) geração de ânion superóxido durante a conversão da PGG_2 ; b) antagonistas dos receptores de $\text{TXA}_2/\text{PGH}_2$ inibem as contrações produzidas por radicais livres de oxigênio em anéis de aorta de SHR; c) liberação de radicais livres de oxigênio na parede vascular durante hipertensão aguda; d) radicais superóxido causam contração da musculatura lisa vascular e aumento da sensibilidade da vasculatura lisa aos agonistas α -adrenérgicos e outros vasoconstritores; e) o relaxamento da musculatura lisa dependente do endotélio é atenuado em presença de radicais superóxido; f) esses efeitos adversos dos radicais superóxido podem ser abolidos pela superóxido-dismutase^{53,54}.

O grupo mais importante de vasoconstritores produzido pelo endotélio (EDCF_2) é constituído por polipeptídeos vasoconstritores designados endotelinas⁵⁵. Em humanos, existem pelo menos três isoformas de endotelina, designadas 1, 2 e 3⁵⁶. A endotelina-1 é a única sintetizada pelas células endoteliais e é o mais potente vasoconstrictor já descrito (potência 10 vezes superior à da angiotensina II³).

A endotelina é um polipeptídeo com 21 aminoácidos derivado de uma molécula maior, a pré-endotelina, com 203 aminoácidos, através de uma enzima conversora. Admite-se que a endotelina atue em receptores específicos das células musculares lisas vasculares, induzindo a sinais bioquímicos intracelulares envolvendo, seqüencialmente, ativação da fosfolipase C, liberação de IP3 e DAG, com a conseqüente elevação dos níveis intracelulares de cálcio e ativação da proteína-quinase C^{3,57}. Todos esses eventos causam, finalmente, contração duradoura da musculatura lisa vascular.

Nas artérias, o efeito vasoconstrictor da endotelina é acentuadamente limitado pela liberação de EDRF e prostaciclina e potencializado pela remoção do endotélio, o que confirma o papel inibitório normal exercido pelos diversos fatores de relaxamento dependentes do endotélio nos efeitos constrictores da endotelina⁵⁸. Investigações experimentais evidenciaram que a produção de endotelina pelas células endoteliais aumenta na injúria vascular e que seus efeitos nos vasos sanguíneos são tanto a contração como a proliferação celular⁵⁹.

Finalmente, sob condições de hipóxia severa seria liberado um terceiro fator de contração derivado do endotélio (EDCF_3)^{59,b}.

5. Fatores Mitogênicos Derivados do Endotélio

Recentes observações indicam que o endotélio desempenha ainda importante papel regulador no crescimento e remodelação dos vasos sanguíneos. Entre os fatores promotores do crescimento (mitogênicos) derivados do endotélio incluem-se o fator de crescimento derivado das plaquetas (EDGF), o fator de crescimento fibroblástico básico (FGF), o fator de crescimento insulina-like 1 (IGF-1) e a interleucina-1 (IL-1)⁶⁰. Outrossim, os vasoconstritores derivados do endotélio, tais como endotelina, tromboxane A_2 e angiotensina II, exibem também propriedades promotoras do crescimento das células musculares lisas vasculares e da matriz do vaso. De outra parte, entre as substâncias inibidoras do crescimento celular produzidas pelo endotélio incluem-se o heparan sulfato, o fator de crescimento transformador β (TGF- β) e os fatores vasodilatadores dependentes do endotélio, como EDRF e prostaciclina^{10,59,60}.

Esses mecanismos autócrinos e parácrinos dependentes do endotélio exercem efeitos imediatos no tônus vascular, através de suas influências no estado contrátil

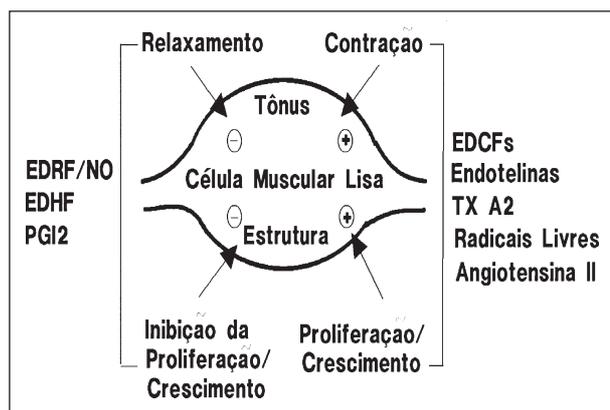


Fig. 4 - Regulação do tônus e estrutura das células musculares lisas pelos fatores vasoativos derivados do endotélio.

da musculatura lisa, e podem exercer efeitos a longo prazo na função e crescimento vascular, através de influência na estrutura do vaso ^{10,60} (fig. 4). O balanço entre promotores e inibidores do crescimento modula a estrutura da parede vascular em condições normais e patológicas ⁶¹.

Regulação da Coagulação Intravascular

Devido a sua posição estratégica e funções fisiológicas, o endotélio exerce papel primordial no mecanismo de defesa das artérias normais contra a coagulação intravascular. Essa proteção contra a trombose é devida a diversos fatores passivos e ativos, que se opõem à ativação plaquetária, bem como da coagulação plasmática. Ademais, as células endoteliais estimulam a reação fibrinolítica.

1. Fatores Antitrombogênicos

Glicosaminoglicans heparina-like - O endotélio intacto impede os fatores de hemostasia (plaquetas) e de coagulação de entrarem em contato e, conseqüentemente, de se ativarem com os tecidos subendoteliais trombogênicos, em particular o colágeno. A superfície externa das células endoteliais é rica em glicosaminoglicans carregados negativamente, que repelem as plaquetas, também com cargas negativas em sua superfície. Esses glicosaminoglicans da família da heparina (heparan sulfato) fixam a antitrombina III (AT III) e induzem a forte concentração local desse potente anticoagulante fisiológico, que fixa e inibe a trombina (complexo trombina-AT III), bem como acelera a inibição dos fatores IXa e Xa ^{7,62}. Esses efeitos são neutralizados se os vasos são pré-tratados com heparinase, ou pela adição simultânea de PF₄. A heparinase degrada especificamente a heparina ou os heparan-sulfatos. O PF₄ devido a sua forte afinidade pela heparina, entra em competição com a AT III para fixação ao heparan-sulfato da membrana endotelial ⁷.

Atividade Antiplaquetária do EDRF, Prostaciclina e ADPases - Ademais de seu efeito relaxante das células musculares lisas vasculares, o EDRF/NO exerce potentes efeitos inibidores da adesão das plaquetas à parede vascular e da agregação plaquetária. O efeito inibidor da agregação plaquetária é mediado também pelo aumento dos níveis intraplaquetários de GMP cíclico e subsequente redução do Ca⁺⁺ livre ativador no citosol plaquetário ^{63,64}.

A prostaciclina sintetizada pelo endotélio é um potente antiagregante plaquetário e seus efeitos se opõem aos do tromboxane A₂, potente vasoconstrictor e ativador da agregação plaquetária, gerado nas plaquetas pela via de ciclooxigenase. Os efeitos do EDRF e da prostaciclina na função plaquetária são fortemente sinérgicos ^{63,65}, de modo que concentrações subliminares de ambos os agentes em associação podem inibir acentuadamente a agregação plaquetária ⁶³. Assim, a ação combinada do EDRF e prostaciclina constitui poderosa barreira antiagregante na superfície luminal das células endoteliais intactas.

ADPases, enzimas da membrana endotelial, degradam o ADP liberado dos grânulos densos das plaquetas ativadas, limitando essa importante via de agregação plaquetária ².

Sistema Proteína C-Trombomodulina - A coagulação plasmática é uma cascata altamente elaborada de ativação enzimática, fatores ativadores e inibidores, tendo como objetivo final a transformação do fibrinogênio solúvel em um gel de fibrina insolúvel. A sofisticação opera sobretudo no sentido de limitar a extensão do processo de coagulação local. Um dos sistemas mais eficazes é o da proteína-C-trombomodulina-proteína S.

A proteína C é um inibidor fisiológico da coagulação e parece ter também atividade pró-fibrinolítica. Essa proteína vitamina K-dependente é secretada em forma inativa e é ativada pela trombina. A ativação da proteína C é consideravelmente acelerada na superfície do endotélio por um cofator, a trombomodulina. A trombomodulina é proteína sintetizada pelas células endoteliais e constitui um dos sítios receptores da trombina na superfície do endotélio. O complexo trombina-trombomodulina ativa a proteína-C, enquanto a trombina é inativada por internalização do complexo e subsequente degradação no interior das células endoteliais ^{7,66}. O papel principal da proteína C ativada é a inativação dos fatores de coagulação Va e VIIa. Essa inativação é potencializada por um cofator, a proteína S, sintetizada pelo fígado.

Ademais da potente ação anticoagulante, a proteína C ativada estimula a liberação do t-PA e neutraliza um inibidor circulante do t-PA ⁶⁶. O endotélio intacto possui, pois, diversas propriedades antitrombogênicas naturais.

Estimulação da Fibrinólise Natural - O endotélio exerce atividade fibrinolítica através de ativadores do plasminogênio - tipo tissular (t-PA), o principal agente

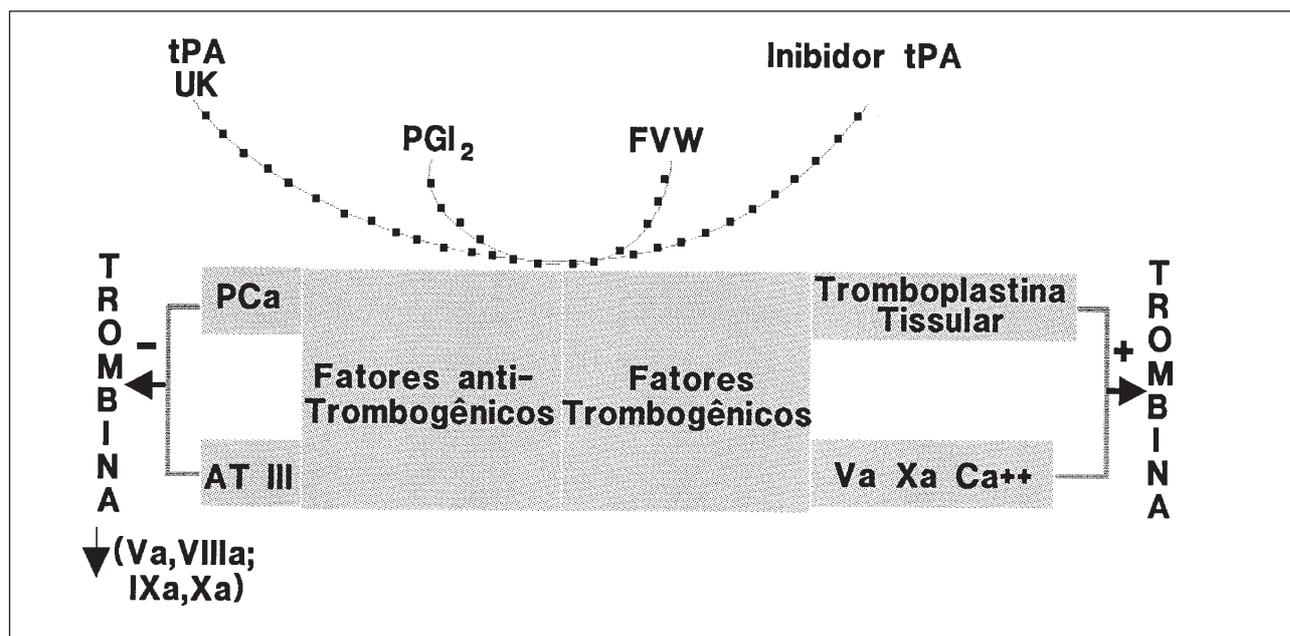


Fig. 5 - Balanço entre os fatores trombogênicos e antitrombogênicos derivados do endotélio.

da fibrinólise fisiológica, e tipo uroquinase. Ambos os ativadores convertem o plasminogênio em plasmina, a qual hidrolisa a fibrina em fragmentos solúveis e degrada o fibrinogênio, a protrombina e os fatores V e VIII^{67,68}. Como o plasminogênio liga-se à fibrina durante a formação desta e somente é ativado quando a ligação ocorre, a geração de plasmina processa-se dentro do trombo, onde é protegida da inativação pela α -2-antiplasmina. Em consequência, a atividade proteolítica da plasmina limita-se ao trombo, pois o plasminogênio em fase líquida não é ativado e a plasmina livre, à medida que a degradação da fibrina se completa, é rapidamente inativada pela α -2-antiplasmina⁶⁸.

A atividade enzimática dos ativadores do plasminogênio é regulada por proteínas inibitórias específicas, os inibidores dos ativadores do plasminogênio tipos 1 a 3⁶⁹. O inibidor tipo 1 é secretado pelas plaquetas ativadas, inibe ambos os tipos de ativador do plasminogênio e é também inativador da proteína C ativada⁷⁰. Altas concentrações de inibidor tipo 1 no local da trombose podem inibir a fibrinólise endógena e exógena, promover a estabilidade do trombo e torná-lo relativamente resistente aos agentes fibrinolíticos⁷⁰.

2. Fatores Trombogênicos

Os fatores trombogênicos endoteliais são representados pelo fator de von Willebrand (vW), atividade pró-coagulante - síntese de tromboplastina tissular e atividade protrombinase - e inibidores do ativador do plasminogênio.

O fator de vW é uma glicoproteína de alto peso molecular, caracterizada por sua estrutura multimérica e sintetizada pelos megacariócitos e células endoteliais. É liberado pelas células endoteliais em resposta a diversos

estímulos, inclusive a trombina. Permite a adesão das plaquetas, nas quais se fixa em seu receptor GPIb, às microfibrilas do subendotélio. O fator de vW desempenha, pois, papel fundamental na adesão plaquetária, primeira etapa da formação do trombo.

Em estado basal, nenhuma atividade tipo tromboplastina tissular é detectável nas células endoteliais em cultura. Entretanto, após estimulação por endotoxinas bacterianas, trombina, plaquetas, fator de necrose tumoral, etc, aparece um ativador pró-coagulante⁷. a tromboplastina tissular ativa o fator VII (via extrínseca da coagulação) que, por sua vez, ativa o fator X.

O complexo protrombinase é constituído pela associação, na superfície das células endoteliais, do fator V, fatores IXa e Xa, fosfolípidos plaquetários e cálcio. O fator V, sintetizado pelas células endoteliais, fixa-se sobre a membrana e desempenha papel essencial. O fator X é ativado pelo fator V e pelo fator IXa, em presença do fator VIII. O fator IX é ativado, seja pelo sistema contato (XI), seja pelo fator VIIa da via extrínseca. O complexo protrombinase transforma a protrombina em trombina. Assim, há duas vias, intrínseca e extrínseca, de formação da trombina na superfície do endotélio vascular, as quais podem atuar simultaneamente⁷. A figura 5 mostra a representação esquemática do balanço entre os fatores trombogênicos e antitrombogênicos derivados do endotélio.

Disfunção Endotelial, Espasmo e Trombose

O fato de que diversas substâncias liberadas durante a agregação plaquetária e a formação do trombo sejam

potentes estimuladores da liberação do EDRF e, de outra parte, exerçam efeitos diretos nas células musculares lisas e nas plaquetas, que se opõem aos efeitos do EDRF, sugere que a disfunção/lesão endotelial desempenhe papel crucial no aumento da propensão ao vasoespasm e à trombose, em artérias coronárias doentes ^{70a}.

Realmente, quando o endotélio sofre alteração funcional mesmo sem desnudação (injúria tipo I), ou quando ocorre desnudação endotelial com lesão da íntima (injúria tipo II), ou com lesão da íntima e da média (injúria tipo III) ⁷¹, suas importantes funções são acentuadamente comprometidas ^{3-8, 39,41,44,45,48}. A disfunção endotelial, caracterizada por redução da síntese/liberação de substâncias vasodilatadoras e facilitação da síntese/liberação de substâncias vasoconstrictoras, pode induzir a várias conseqüências patológicas, como vasoespasm, trombose e hipertensão.

Em artérias coronárias normais, se as plaquetas começam a agregar-se, a ação vasoconstrictora potente do tromboxane A2 e da serotonina liberados é revertida pela vasodilatação dependente do endotélio, induzida principalmente pelos nucleotídeos da adenosina e também pela serotonina, via EDRF. Essa vasodilatação favorece o deslocamento do agregado plaquetário pelo fluxo sanguíneo, antes que o trombo se forme e comprometa a perfusão

tissular. Ademais, agregação plaquetária adicional é inibida pela ação combinada do EDRF e da prostaciclina, e a serotonina liberada é captada e inativada pelas células endoteliais, evitando-se, assim, a contração das células musculares lisas vasculares, por ação direta dessa substância ^{5,44,45,72} (fig. 6).

De outra parte, investigações em animais com aterosclerose induzida experimentalmente demonstraram que a aterosclerose compromete a vasodilatação dependente do endotélio, tanto em artérias periféricas como coronárias ^{73,74}. Entre os fatores que levam ao comprometimento da função endotelial, incluem-se ⁵: redução da sensibilidade dos receptores de membrana das células endoteliais aos diferentes vasodilatadores dependentes do endotélio; diminuição da produção e liberação de EDRF/NO pelas células endoteliais; maior inativação do óxido nítrico pelos macrófagos, durante sua passagem pela íntima espessada; redução da resposta vasodilatadora das células musculares lisas ao EDRF/NO. Ademais, observa-se inibição das ações vasodilatadora e antiagregante normais do endotélio vascular em resposta às plaquetas agregadas ⁷⁵. Em conseqüência, a ação vasoconstrictora independente do endotélio (tromboxane A2 e serotonina, atuando em receptores 5-HT₂ das células musculares lisas) e provavelmente da endotelina, manifesta-se plena-

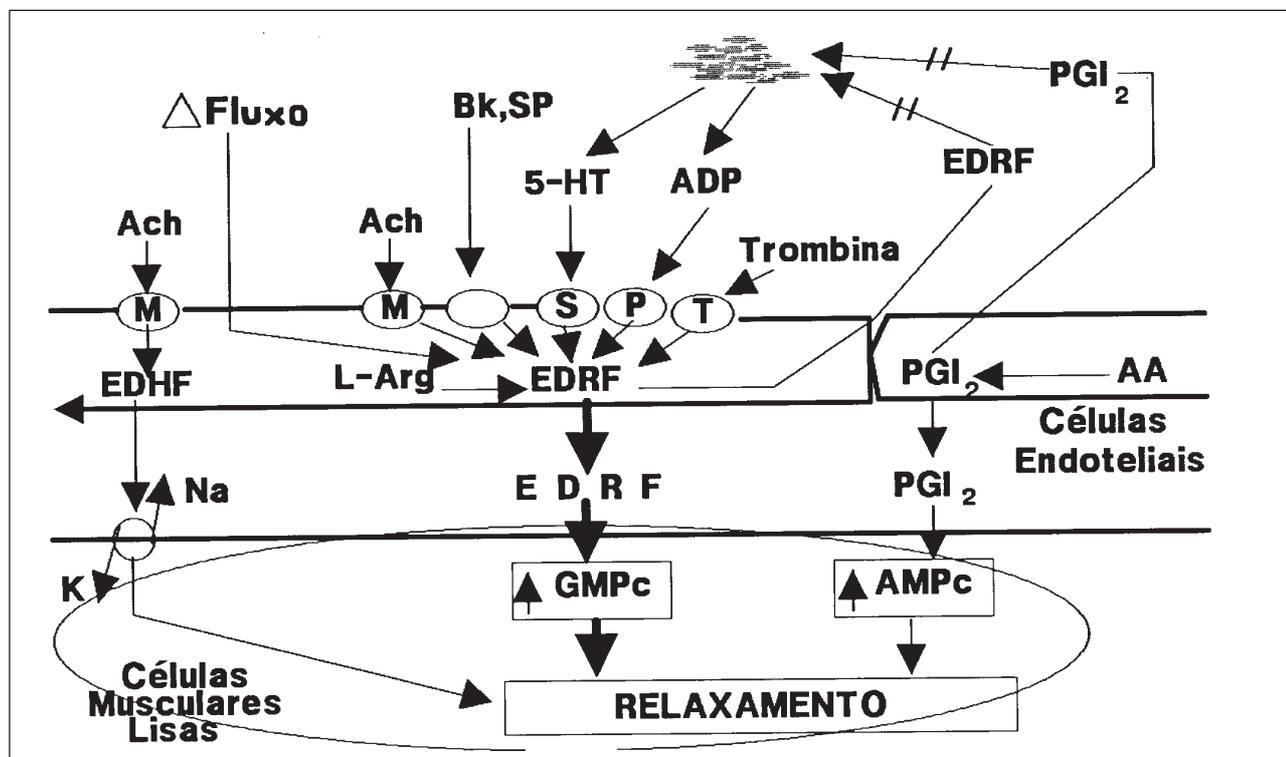


Fig. 6 - Mecanismos de vasodilatação dependentes do endotélio. Alterações do fluxo sanguíneo e diversas substâncias vasoativas, atuando em receptores específicos da superfície endotelial, induzem à liberação do fator de relaxamento dependente do endotélio (EDRF) pelas células endoteliais. Estas secretam também um fator hiperpolarizante (EDHF) e a PGI₂ ou prostaciclina. O relaxamento das células musculares lisas causadas pelo EDRF, EDHF e prostaciclina é mediado, respectivamente, pelo aumento do monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), ativação da bomba sódio-potássio e aumento do monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). EDRF e prostaciclina são liberados também no lúmen arterial, onde inibem sinergicamente a agregação plaquetária.

Ach- acetilcolina; Bk- bradicinina; SP- substância P; 5-HT- serotonina; ADP- difosfato de adenosina; L-Arg- L-arginina; AA- ácido araquidônico; M, S, P, T- receptor muscarínico, serotoninérgico, purinérgico e de trombina, respectivamente. Apud Vrints e Herman ⁵, modificado.

servadas na aterosclerose coronária e que resultam da disfunção endotelial.

Recentemente, Zeiher e col⁸⁴ demonstraram que na aterosclerose coronária inicial há uma gradativa disfunção endotelial, com três estágios progressivos: a) precocemente, ainda com artérias angiograficamente normais, há somente resposta anormal à acetilcolina, com preservação da resposta normal ao aumento do fluxo sanguíneo e à estimulação simpática, evidenciada pelo teste pressórico do frio; b) um segundo estágio, no qual a resposta à estimulação simpática também se torna anormal; c) finalmente, já em presença de alterações angiográficas, falhas de todas as respostas vasodilatadoras, inclusive a aumento do fluxo sanguíneo.

A reatividade vascular anormal em pacientes com artérias coronárias angiograficamente normais, parece correlacionar com a presença e o número de fatores de risco para aterosclerose coronária, que podem lesar o endotélio anatômica ou funcionalmente⁸⁵⁻⁸⁸.

Pacientes com hipercolesterolemia, na ausência de aterosclerose manifesta, apresentam comprometimento do relaxamento dependente do endotélio, tanto à acetilcolina como à metacolina⁸⁵⁻⁸⁸. Efeitos deletérios na função endotelial foram observados também com outros fatores de risco, como hipertensão⁸⁹, diabetes⁹⁰, tabagismo⁹¹, hiperinsulinemia⁸⁸ e estresse psico-social⁹². Ademais, demonstrou-se que a liberação de EDRF diminui com a idade⁸⁰.

As respostas relaxantes das artérias e arteríolas induzidas pelos vasodilatadores dependentes do endotélio são comprometidas em cobaias e macacos com hipercolesterolemia dietética. Crescentes evidências indicam que o mesmo fenômeno ocorre em humanos. Utilizando arteriografia coronária quantitativa computadorizada, Vita e col⁸⁶ compararam os efeitos vasodilatadores da acetilcolina (endotélio-dependente) e da nitroglicerina (endotélio-independente), em pacientes com diferentes níveis de colesterol e sem sinais angiográficos de aterosclerose. Análise de regressão múltipla mostrou que a resposta constritora à acetilcolina se associou independentemente com hipercolesterolemia, história familiar de DAC e idade do paciente. O número total de fatores de risco foi o melhor preditor da resposta à acetilcolina.

Yasue e col⁸⁰ mostraram que as respostas à injeção intracoronária de acetilcolina, em pacientes com coronárias angiograficamente normais, correlacionaram com a distribuição esperada da aterosclerose não manifesta. O comportamento da dilatação dependente do endotélio e a constricção arterial foram mais acentuadas nos segmentos proximais do que nos distais e particularmente evidentes nos pontos de bifurcação arteriais. Esses segmentos são locais de padrão de fluxo sanguíneo turbulento, com maior predisposição ao desenvolvimento da aterosclerose.

Os resultados dos estudos de Zeiher e col⁸⁴, com avaliação de fluxo sanguíneo através de Doppler intracoronário, e de Creager e col⁸⁷, através de pletismografia

do antebraço, evidenciaram também comprometimento da resposta vasodilatadora dependente do endotélio em presença de hipercolesterolemia. O mecanismo do comprometimento da vasodilatação nas hiperlipoproteïnemias pode envolver alterações dos receptores de membrana acoplados à liberação de EDRF e, ainda, inibição da atividade da guanilato-ciclase solúvel na musculatura lisa vascular^{92-a}.

Esses achados indicam que fatores de risco coronário possam exercer efeitos deletérios e sinérgicos na função do endotélio e que a disfunção endotelial represente um marcador precoce da aterosclerose, não detectada pela angiografia, ou que preceda o desenvolvimento do processo aterosclerótico⁸⁶⁻⁸⁸. Essa disfunção endotelial pode diminuir a reserva vasodilatadora coronária e constituir importante ligação fisiopatológica entre a aterosclerose e o vasoespasmó associado.

Os mecanismos responsáveis pelo espasmo arterial coronário não estão ainda suficientemente elucidados e são provavelmente múltiplos. Entretanto, nos últimos anos, o papel-chave do endotélio na regulação do tônus vascular e na gênese do espasmo arterial coronário tem sido cada vez mais destacado^{1,3-6,10,13,44,93-95}. A disfunção/lesão endotelial, associada à aterosclerose coronária e a fatores de risco, ou à fissura da placa, parece ser o mecanismo celular subjacente comum que provoca hiperatividade das células musculares lisas, induzindo à vasoconstricção de graus variáveis, até o espasmo franco. Cabe repetir que a injúria endotelial resulta em: comprometimento da secreção de EDRF e prostaciclina e, portanto, da geração de GMP cíclico e AMP cíclico, respectivamente; inibição da modulação e inativação das substâncias vasoativas circulantes ou secretadas pelas plaquetas ativadas; aumento da produção de endotelina e de outros EDCFs; com o conseqüente aumento da concentração de Ca⁺⁺ citosólico nas células musculares lisas vasculares.

De outra parte, sabe-se que o endotélio intacto constitui interface não-trombogênica e que a lesão endotelial predispõe à adesão e agregação plaquetária, à ativação da cascata de coagulação e à trombose arterial, pelos mecanismos anteriormente descritos.

Assim, em pacientes com doença aterosclerótica coronária, a disfunção/lesão endotelial, resultando em perda da ação protetora contra o espasmo e a trombose, desempenha importante papel na precipitação dos eventos coronários isquêmicos.

1. Aterogênese

A teoria atualmente prevalente sobre a patogênese da aterosclerose é a da resposta à injúria, proposta por Virchow, em 1856, e modificada por Ross⁹⁶, mais de um século após. O princípio básico é que a injúria endotelial constitui o evento inicial crítico que induz à aterogênese. A agressão do endotélio por fatores hemodinâmicos e

outros, como lipoproteínas, pode causar disfunção endotelial, mesmo sem alteração morfológica e sem desnudação celular, facilitando a adesão de monócitos, a transcitose de lipoproteínas e a produção de mitógenos⁹⁷.

Um dos eventos mais precoces na aterogênese é a adesão de monócitos circulantes à superfície endotelial, seguida de sua migração, através das junções intercelulares, ao espaço subendotelial, onde se tornam macrófagos da parede arterial⁹⁷. Os macrófagos acumulam lípidos (ésteres de colesterol) e constituem as células espumosas das estrias gordurosas. As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) passam através do endotélio por transcitose, aparentemente dentro das vesículas do plasmalena, características das células endoteliais⁹⁸. O fator primordial na magnitude da captação arterial das LDL é sua concentração no plasma.

Em sua passagem do plasma à íntima arterial, as LDL entram em contato, não apenas com as células endoteliais, mas também com macrófagos e células musculares lisas, sofrendo modificações oxidativas, processo que desempenha importante papel na aterogênese. Há fortes evidências de que a peroxidação lipídica é processo mediado por radicais livres e catalizado em presença de metais de transição, como ferro e cobre^{99,100}. LDL oxidadas são captadas mais rapidamente pelos macrófagos que as LDL nativas, para formar células espumosas. Ademais, LDL oxidadas são quimiotáticas para monócitos, inibem a motilidade dos macrófagos tissulares e são citotóxicas para as células endoteliais. A suscetibilidade das LDL à oxidação correlaciona com a magnitude da aterosclerose^{100-a}.

À medida que o processo se desenvolve, lipoproteínas acumulam-se também nas células musculares lisas e no espaço extracelular distribuídas entre as fibrilas e proteoglicanos do tecido conectivo e ao longo da lâmina elástica interna. As estrias gordurosas podem expandir-se, causando retração das células endoteliais, com a consequente exposição do tecido conectivo subendotelial e macrófagos ao sangue circulante.

O endotélio exerce papel importante na modulação do crescimento e do remodelamento dos vasos sanguíneos. Os vasoconstrictores derivados do endotélio - angiotensina II, EDCFs, endotelina e ainda o tromboxane A₂ - são também promotores do crescimento, enquanto os vasodilatadores derivados do endotélio - EDRF, EDHF e prostaciclina - são inibidores do crescimento. O equilíbrio entre essas ações opostas modula a estrutura normal da parede vascular. Alguns fatores de risco - LDL, especialmente oxidadas, hipertensão, tabagismo, diabetes mellitus - podem comprometer as funções endoteliais e o balanço dessas ações, com diminuição dos agentes vasodilatadores e inibidores do crescimento e predomínio dos agentes vasoconstrictores e mitogênicos^{59,60,89-91}. Em consequência, o endotélio disfuncional perde a capacidade de: a) controlar adequadamente o tônus vascular, predispondo à vasoconstrição e ao espasmo arterial; b)

controlar os fatores de crescimento e as alterações migratórias e proliferativas das células musculares lisas subjacentes; c) prevenir a adesão de plaquetas e monócitos às células endoteliais e sua penetração na parede vascular; d) constituir barreira eficaz contra as lipoproteínas, que penetram e se acumulam na íntima em grande quantidade^{10,59,60}.

Perspectivas Terapêuticas

As pesquisas da última década têm demonstrado que o desenvolvimento da doença aterosclerótica coronária (DAC) e da cardiopatia isquêmica resulta de uma cadeia de eventos patológicos, em cujo início estão alguns fatores de risco, como hipercolesterolemia, hipertensão arterial, tabagismo, diabetes mellitus e resistência à insulina¹⁰¹. Esses fatores atuam na parede vascular, especificamente no endotélio, induzindo à disfunção/lesão endotelial.

Como a disfunção endotelial constitui o estágio inicial do processo aterosclerótico e a agressão endotelial crônica contribui para a sua progressão, durante anos ou décadas, e como, ainda, a injúria vascular profunda pode precipitar síndromes isquêmicas agudas, a proteção endotelial assume importância capital na prevenção primária e secundária da DAC, em qualquer fase evolutiva. Nesse contexto, devem ser ressaltadas algumas intervenções dietéticas e medicamentosas potencialmente promissoras, por influenciarem favoravelmente as funções fisiológicas do endotélio, sobretudo as ações vasodilatadora, antitrombogênica e inibidora do crescimento.

1. Drogas Hipolipemiantes

Diversos experimentos animais e estudos em humanos mostraram que a disfunção endotelial, particularmente nos estágios precoces da lesão vascular, pode ser revertida por intervenções que reduzem os lípidos plasmáticos, tanto através de dieta¹⁰²⁻¹⁰⁴, como de diversos agentes hipolipemiantes^{87,105-110}, especialmente os inibidores da HMG-CoA redutase. Os resultados desses ensaios, objetivando a correção agressiva dos distúrbios lipídicos, vêm se constituindo em promissora estratégia terapêutica para o controle da progressão e mesmo regressão da aterosclerose^{111,112}. Simultaneamente, ocorrem efeitos favoráveis na parede vascular, com melhora do relaxamento dependente do endotélio, favorecendo a vasodilatação, aumento da perfusão e retardo ou inibição da adesão e agregação plaquetária.

De outra parte, os conhecimentos sobre a importância das modificações das lipoproteínas (oxidação) na disfunção endotelial e na patogênese da aterosclerose^{102,113-116} renovou o interesse pelos agentes antioxidantes. Assim, demonstrou-se que LDL incubadas com probucol, ou obtidas de pacientes sob tratamento com essa droga, são

resistentes à oxidação¹¹⁷. Probucol retardou a progressão da aterosclerose experimental em cobaias, por mecanismos não relacionados a seu efeito hipocolesterolêmico¹¹⁸. Recentemente, Masana e col documentaram a eficácia do probucol em reduzir a oxidação das LDL em pacientes hipercolesterolêmicos, sugerindo a potencialidade desse medicamento como coadjuvante de terapêutica antiaterogênica hipolipemiante¹¹⁹.

A vitamina E é um potente antioxidante lipossolúvel, que aumenta a resistência das LDL à oxidação e inibe a proliferação das células musculares lisas. Recentes estudos evidenciaram que o consumo habitual de vitamina E (100UI/dia), pelo menos se associou a redução do risco de eventos coronários (DAC), tanto em homens¹²⁰ (risco relativo 0,63), como em mulheres¹²¹ (risco relativo 0,59). Ensaio controlado e randomizado sobre os efeitos da vitamina E na prevenção primária e secundária da DAC estão em andamento e poderão fornecer informações sobre o real benefício dessa terapêutica. Os carotenóides atuam também como antioxidantes lipossolúveis, além de interagirem com e seqüestrarem diversas espécies de radicais que podem ser geradas dentro das células¹²². Em um estudo¹²⁰, a ingestão de β -caroteno não correlacionou com menor risco de DAC em pacientes que nunca fumaram, porém se associou inversamente com o risco entre fumantes (risco relativo 0,30) e ex-fumantes (risco relativo 0,60). Outros agentes antioxidantes, como vitamina C e selênio, têm sido utilizados na prática clínica, porém seu potencial terapêutico é ainda especulativo.

Lipoproteínas de alta densidade (HDL) podem ser antiaterogênicas, provavelmente por facilitarem o transporte reverso do colesterol^{123,124} e estudos demonstraram o papel protetor das HDL na função endotelial¹²⁵. Justifica-se assim a utilização de medidas e fármacos para elevar os níveis de HDL, com a finalidade de preservar a função endotelial e prevenir a aterogênese⁹⁷.

Shimokawa e col relataram que o óleo de peixe (fígado de bacalhau) melhorou as respostas dependentes do endotélio, em porcos, tanto em artérias coronárias normais¹⁰⁴, como em artérias ateroscleróticas induzidas por dieta rica em colesterol¹²⁶. O óleo de peixe não exerceu efeitos sobre o colesterol total, LDL, VLDL ou HDL, porém reduziu os níveis plasmáticos de ácido araquidônico e aumentou os de ácido eicosapentanoico. É possível que essas alterações nos ácidos graxos livres do plasma afetem a composição das membranas fosfolipídicas e que reduzam algumas lesões da íntima, influenciando favoravelmente a síntese, liberação ou transporte do EDRF.

2. Inibidores da Enzima Conversora

Em diferentes tipos de hipertensão experimental foram demonstradas, além da hipertrofia da média, alterações morfológicas do endotélio, como irregularidades na superfície celular, associadas a aumento da permeabili-

dade aos componentes sanguíneos e à redução do relaxamento dependente do endotélio^{89,127}. De outra parte, em pacientes hipertensos, a dilatação vascular induzida pela acetilcolina é menor do que a observada em indivíduos normotensos, sugerindo que na hipertensão deva haver alguma disfunção endotelial que possa ser causa ou, ainda, conseqüência da hipertensão.

O papel da angiotensina II merece consideração especial. Essa substância, além de potente vasoconstrictor, é também fator mitogênico. Estudos indicam o envolvimento da angiotensina II na hipertrofia vascular associada à hipertensão e na hiperplasia mio-intimal^{128,129}. A angiotensina II tem a propriedade de ativar fatores proto-oncogênicos e de estimular a produção de fatores de crescimento diversos, inclusive fatores autócrinos das células musculares lisas^{88,89,129}.

A ativação dos receptores de angiotensina II das células musculares lisas vasculares resulta em aumento da atividade da fosfolipase C, a qual gera trifosfato de inositol e diacilglicerol²⁴. Esses metabólitos iniciam uma série de eventos celulares, tais como aumento do cálcio intracelular e ativação da proteína-quinase, a qual induz à contração. Esses eventos medeiam também os efeitos tardios da angiotensina II, como regulação da expressão de genes, aumento de proteínas, síntese de DNA e RNA e o resultante aumento do crescimento celular e da estrutura vascular¹²⁹.

Os inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA) exercem múltiplas influências na parede vascular, particularmente no endotélio. A ECA do endotélio é responsável pela conversão local da angiotensina I em angiotensina II e pela degradação da bradicinina. Os inibidores da ECA bloqueiam a formação de angiotensina II e, portanto, reduzem o tônus vascular e induzem a aumento da bradicinina, que ativa a formação de prostaciclina e estimula a liberação de EDRF. Ademais, esses medicamentos podem reduzir a hipertensão, a hipertrofia das células musculares lisas e prevenir a hiperplasia mio-intimal, em resposta à injúria endotelial^{128,130}. Os inibidores da ECA aumentam a sensibilidade à insulina e não afetam os níveis plasmáticos do lípidos¹³⁰. Inibidores da ECA contendo radical sulfidril (-SH), são removedores eficazes de radicais livres¹³¹ e retardam a oxidação das LDL em humanos¹³². Assim, os inibidores da ECA influenciam favoravelmente múltiplos mecanismos envolvidos na aterogênese.

3. Bloqueadores dos Canais de Cálcio

Embora os íons cálcio desempenhem papel primordial no processo de liberação, tanto do EDRF como do EDCF, não há evidência de que os bloqueadores dos canais de cálcio, ou antagonistas do cálcio, atuem primariamente nas células endoteliais. Entretanto, esses fármacos favorecem as ações do EDRF e são os antagonistas mais eficazes da contração dependente do endoté-

lio¹³³. O principal local de ação vascular dos antagonistas do cálcio é a musculatura lisa. Os efeitos relaxantes dessas células são provavelmente aditivos quando EDRF e antagonistas de cálcio estão envolvidos, pelas ações simultâneas nos canais operados por receptores e voltagem, respectivamente¹³⁴.

Há, atualmente, evidências consideráveis de que os antagonistas do cálcio exerçam efeitos favoráveis na aterogênese, reduzindo a lesão endotelial e inibindo a migração e proliferação das células musculares lisas vasculares. A migração das células musculares lisas da média para a íntima e a proliferação dessas células em resposta à injúria e fatores de crescimento são processos tanto cálcio-dependentes, como sensíveis aos antagonistas do cálcio^{135,136}. A inibição da migração das células musculares lisas pelos antagonistas do cálcio reduz a lesão endotelial, diminui o recrutamento de monócitos e plaquetas por fatores das células endoteliais e bloqueia a transformação das células musculares lisas migradas do fenótipo contrátil para o sintético¹³². A redução da lesão endotelial protege contra a permeabilidade aumentada e a morte celular^{137,138}.

Os antagonistas do cálcio podem, ainda, bloquear a formação de LDL oxidadas, através de ação antioxidante. Os três grupos principais de antagonistas do cálcio inibem a produção do ânion superóxido pelos neutrófilos, previnem a peroxidação fosfo-lipídica e protegem contra o aumento da permeabilidade endotelial induzida pelo peróxido de hidrogênio^{136,139}. Esses efeitos antioxidantes dos antagonistas do cálcio, que se manifestam em altas concentrações, não dependem dos canais de cálcio. Entretanto, podem ser importantes em relação às ações antiaterogênicas dessas drogas, interrompendo a formação de células espumosas e prevenindo outros efeitos das LDL oxidadas que contribuem ao processo aterogênico, incluindo inativação do EDRF, citotoxicidade nas células endoteliais, quimiotaxia dos monócitos e mobilidade dos macrófagos^{112,113,140}.

4. L-Arginina

Em vasos normais, a concentração de L-arginina nas células endoteliais parece ser suficiente para a geração máxima de EDRF/NO^{30,31}. Contudo, em certas circunstâncias, administração de L-arginina é crucial para a restauração do relaxamento dependente do endotélio²⁹⁻³¹. Em modelos experimentais associados à disfunção endotelial, demonstrou-se que a administração exógena de L-arginina melhorou o relaxamento do endotélio e reduziu ou inibiu a resposta vasoconstritora a vários estímulos^{32,141,142}.

A administração intracoronária de L-arginina, em pacientes hipercolesterolêmicos com doença aterosclerótica coronária, aliviou a vasoconstricção induzida pela acetilcolina e aumentou o fluxo sanguíneo. Essa resposta sugere aumento da atividade do EDRF nas grandes

artérias coronárias³³. Efeitos similares foram observados na microcirculação coronária de pacientes hipercolesterolêmicos¹⁴³. A redução da disponibilidade de L-arginina e da síntese de EDRF/NO poderia explicar o comprometimento da vasodilatação dependente do endotélio na hipercolesterolemia e na aterosclerose^{33,144}.

Conclusões

Os conhecimentos sobre as múltiplas funções do endotélio vascular e suas potenciais implicações terapêuticas evoluíram extraordinariamente nos últimos anos. Cumpre destacar que essa estrutura, verdadeira glândula autócrina e parácrina, desempenha papel fundamental no controle da circulação, através da liberação e modulação de numerosos fatores, que influenciam a reatividade e a estrutura vascular e a coagulação sanguínea. A integridade anatômica e funcional do endotélio é essencial à regulação do tônus vascular, à manutenção do fluxo sanguíneo sob as mais diferentes condições de demandas metabólicas e à prevenção da trombose intravascular. De outra parte, a disfunção e/ou lesão endotelial, conseqüente à ação de conhecidos fatores de risco coronário, da aterosclerose e da ruptura da placa, predispõe à vasoconstricção arterial e arteriolar, ao espasmo, à trombose e à isquemia miocárdica, além de acelerar o desenvolvimento das placas ateroscleróticas. Todos esses processos representam importantes aspectos patogênicos na precipitação dos eventos coronários. Portanto, medidas que visem a proteção da função e estrutura do endotélio, ou a restauração da função endotelial anômala, podem ser de grande benefício na prevenção e tratamento das diferentes formas clínicas de isquemia miocárdica e da própria aterosclerose coronária. Acreditamos que tais medidas constituirão um dos itens mais importantes na estratégia terapêutica da doença arterial coronária e de suas complicações.

Referências

1. Dynerman JL, Mehta JL - Endothelial, platelet and aleucocyte interactions in ischemic heart disease: Insights into potential mechanisms and their clinical relevance. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 207-22.
2. Drouet L - L'Endothélium est un veritable organ. *Quotidien Med Rev* 1987; 71: 9-21.
3. Vane JR, Angard EE, Botting RM - Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990; 323: 27-36.
4. Thulesius O - Vasodilation and the endothelial cell. *ACE Report* 53 1988, p. 1-5.
5. Vrints G, Herman AG - Role of the endothelium in the regulation of coronary artery tone. *Acta Cardiol* 1991; 46: 399-418.
6. Bassenge E, Huckstorf CH - Endothelium-mediated control of coronary circulation. *Acta Cardiol* 1991; 46: 419-24.
7. Molho-Sabatier P - Endothélium et thrombose. *Rev Méd Interne* 1987; 8: 389-94.
8. Healy B - Endothelial cell dysfunction: An emerging endocrinopathy linked to coronary disease. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 357-8.
9. Jaffe EA - Physiologic functions of normal endothelial cells. *Ann NY Acad Sci* 1985; 454: 279-91.
10. Dzau VJ - Significance of endothelial derived vasoactive substances. *J Vasc Med*

- Biol 1989; 1: 43-55.
11. Gryglewski R, Botting R, Vane JR - Mediators produced by the endothelial cell. *Hypertension* 1988; 12:530-48.
 12. Newby AC, Hendersen AH - Stimulus-secretion coupling in vascular endothelial cells. *Ann Rev Physiol* 1990; 52: 661-74.
 13. Almeida PJ, Cabral AM, Vasquez EC - O endotélio como modulador de respostas vasomotoras. *Arq Bras Cardiol* 1993; 60: 347-56.
 14. Moncada S, Herman AG, Higgs EA, Vane JR - Differential formation of prostacyclin (PGX or PGI2) by layers of the arterial wall: an explanation for the antithrombotic properties of vascular endothelium. *Thromb Res* 1977; 11: 323-44.
 15. Needleman P, Turk J, Jakschik BA, Morrison AR, Lefkowitz JB - Arachidonic acid metabolism. *Ann Rev Biochem*, 1986; 55: 69-102.
 16. Marcus AJ, Weksler BB, Jaffe EA, Brockman MJ - Synthesis of prostacyclin from platelet-derived endoperoxides by cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1980; 66: 979-86.
 17. Furchgott RF, Zawadzki JV - The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
 18. Furchgott RF - Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res* 1983; 53: 557-73.
 19. Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki JV - Endothelial cells as mediators of vasodilations of arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6(Suppl 2): S336-S44.
 20. Furchgott RF, Vanhoutte PM - Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989; 3: 2007-18.
 21. Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS - Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res* 1987; 61: 866-79.
 22. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S - Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
 23. Myers PR, Minor RL Jr, Guerra R Jr, Bates JN, Harrison DG - Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. *Nature* 1990; 345: 161-3.
 24. Rapaport RM, Draznin MB, Murad F - Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature* 1983; 306: 174-6.
 25. Forstermann V, Mulsch A, Bohme E, Busse R - Stimulation of soluble guanylate cyclase by acetylcholine-induced endothelium-derived factor from rabbit and canine arteries. *Circ Res* 1986; 58: 531-8.
 26. Benjamin N, Vallance P - Local control of human peripheral vascular tone: Implications for drug therapy. *Clin Sci* 1991; 80: 183-190.
 27. Martin W, Villani GM, Jothianandan D, Furchgott RF - Selective blockade of endothelium-dependent and glyceril trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 232: 708-16.
 28. Gryglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S - Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1986; 320: 454-6.
 29. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S - Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333: 664-6.
 30. Rees DD, Palmer RMJ, Moncada S - Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 2334-8.
 31. Palmer RMJ, Rees DD, Ashton DS, Moncada S - L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Comm* 1988; 153: 1251-6.
 32. Cooke JP, Andon NA, Girerd XJ, Hirsh AT, Creager MA - Arginine restores cholinergic relaxation of hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta. *Circulation* 1991; 83: 1057-62.
 33. Dubois-Randé JL, Zelinsky R, Roudot F et al - Effects of infusion of L-arginine in the left anterior descending coronary artery on acetylcholine-induced vasoconstriction of human atherosclerotic coronary arteries. *Am J Cardiol* 1992; 70: 1269-75.
 34. Radomsky MW, Palmer RMJ, Moncada S - The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interaction between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987; 92: 639-46.
 35. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM - Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986; 19: H1145-H9.
 36. Pohl U, Bresse R, Bassenge G - Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension* 1986; 8: 37-44.
 37. Chesebro JH, Fuster V, Webster MWI - Endothelial injury and coronary vasomotion. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14: 1191-2.
 38. Ohesen SP, Clapham DE, Davies P - Haemodynamic shear stress activates a K⁺ current in vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 331: 168-70.
 39. Bassenge E, Busse R - Endothelium modulation of coronary tone. *Progr Cardiovasc Dis* 1988; 30: 349-80.
 40. Werns SW, Walton JA, Hsia HH, Nabel EG, Sanz ML, Pitt BB - Evidence of endothelial dysfunction in angiographically normal coronary arteries of patients with coronary artery disease. *Circulation* 1989; 79: 287-91.
 41. Nabel EG, Selwyn AP, Ganz P - Large coronary arteries in humans are responsive to changing blood flow: An endothelium-dependent mechanism that fails in patients with atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 349-56.
 42. McLenachan JM, Williams JK, Fish RD, Ganz P, Selwyn AP - Loss of flow-mediated endothelium-dependent dilation occurs early in the development of atherosclerosis. *Circulation* 1991; 84: 1273-8.
 43. Young MA, Vatner SF - Regulation of large coronary arteries. *Circ Res* 1986; 59:579-96.
 44. Vanhoutte PM, Houston DS - Platelets, endothelium and vasospasm. *Circulation* 1985; 72: 728-34.
 45. Shimokawa H, Kim P, Vanhoutte PM - Endothelium dependent relaxation to aggregating platelets in isolated basilar arteries of control and hypercholesterolemic pigs. *Circ Res* 1988; 63: 604-12.
 46. Burnstock G - Vascular control by purines with emphasis on the coronary systems. *Eur Heart J* 1980; 10(Suppl F): 15- 21.
 47. Amezcua JL, Palmer RMJ, De Souza BM, Moncada S - Nitric oxide synthesized from L-arginine regulates vascular tone in the coronary circulation of the rabbit. *Br J Pharmacol* 1989; 97: 1019-24.
 48. Bassenge E, Heusch G - Endothelial and neuro-humoral control of coronary blood flow in health and disease. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1990; 116: 77-165.
 49. Feleto M, Vanhoutte PM - Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1988; 93: 515-24.
 50. Chen G, Suzuki H - Some electrical properties of the endothelium-dependent hyperpolarization in arterial smooth muscle cells of the rat. *J Physiol (London)* 1989; 421: 521-34.
 51. Auch-Schuelk W, Katusic ZS, Vanhoutte PM - Thromboxane A2 receptor antagonists inhibit endothelium-dependent contractions. *Hypertension* 1990; 15: 699-703.
 52. Kato T, Iwama Y, Okumura K et al - Prostaglandin H2 may be the endothelium-derived contracting factor released by acetylcholine in the aorta of the rat. *Hypertension* 1990; 15: 475-81.
 53. Griglewski RJ, Palmer RMJ, Moncada S - Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 1986; 320: 454-6.
 54. Vanhoutte PM, Katusic ZS - Endothelium-derived contracting factor - endothelin and/or superoxide anion? *Trends Pharmacol Sci*, 1988; 9: 229-30.
 55. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S et al - A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 4411-15.
 56. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S et al - The human endothelin family: three structurally and pharmacologic distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2863-7.
 57. Simonson MS, Wann S, Mene P, Subyak GR, Kester M, Dunn MJ - Endothelin-1 activates the phosphoinositide cascade in cultured glomerular mesangial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13(Suppl 5): S80-S83.
 58. Luscher TF, Yang Z, Tschudi M et al - Interaction between endothelin-1 and endothelium-derived relaxing factor in human arteries and veins. *Circ Res* 1990; 66: 1088-94.
 59. Dubin D, Pratt RE, Cooke JP, Dzau VJ - Endothelin, a potent vasoconstrictor, is a vascular muscle mitogen. *J Vasc Med Biol* 1989; 1: 150-4.
 - 59a. Vanhoutte PM, Luscher TF, Graser T - Endothelium-dependent contractions. *Blood Vessels* 1991; 28: 74-83.
 60. Dzau VJ, Gibbons GH - The role of the endothelium in vascular remodeling. In: Rubanyi GM, ed - *Cardiovascular Significance of Endothelium-Derived Vasoactive Factors*. Mount Kisco, NY, Futura Publishing Co 1991; 281-91.
 61. Cerqueira-Gomes M, Maciel MJ, Faria DB - Endothelium dysfunction in coronary artery disease. *Rev Port Cardiol* 1992; 11: 873-86.
 62. Rosenberg RD, Rosenberg JS - Natural anticoagulant mechanisms. *J Clin Invest* 1984; 74: 1-6.
 63. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S - The aggregating properties of vascular endothelium: Interaction between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987; 92: 639-46.
 64. Pohl V, Busse R - Endothelium-dependent modulation of vascular tone and platelet function. *Eur Heart J* 1990; 11(Suppl B): 35-42.
 65. MacDonald PS, Read MA, Dusing GJ - Synergistic inhibition of platelet aggregation by endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin. *Thromb Res* 1988; 49: 437-9.
 66. Esmon CT - The role of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 1989; 264: 4743-6.
 67. Collen D - On the regulation and control of fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1980; 43: 77-89.
 68. Ranby R, Brandstrom A - Biological control of tissue plasminogen activator-mediated fibrinolysis. *Enzyme* 1988; 40: 130-43.
 69. Sprengers ED, Klufft C - Plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987; 67: 381-

- 7.
70. Fay WP, Owen WG - Platelet plasminogen activator inhibitor: purification and characterization of interaction with plasminogen activated protein C. *Biochemistry* 1989; 28: 5773-8.
71. Ip JH, Fuster V, Badimon L, Badimon J, Taubman MB, Chesebro JH - Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth cell proliferation. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 1667-87.
72. Houston DS, Shapherd JT, Vanhoutte PM - Aggregating human platelets cause direct contraction and endothelium-dependent relaxation of isolated canine coronary arteries: role of serotonin, thromboxane A2 and adenosine nucleotides. *J Clin Invest* 1986; 78: 539-44.
73. Freiman PC, Mitchell GC, Heistad DD, Armstrong ML, Harrison DG - Atherosclerosis impairs endothelium-dependent vascular relaxation to acetylcholine and thrombin in primates. *Circ Res* 1986; 58: 783-9.
74. Lopez JAG, Armstrong ML, Piegors DJ, Heistad DD - Effect of early and advanced atherosclerosis on vascular responses to serotonin, thromboxane A2, and ADP. *Circulation* 1989; 79: 698-705.
75. Shimokawa H, Vanhoutte PM - Impaired endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets and related vasoactive substances in porcine coronary arteries in hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Circ Res* 1989; 64: 900-14.
76. Bossaller C, Habib GB, Yamamoto H, Williams C, Wells S, Henry PD - Impaired muscarinic endothelium-dependent relaxation and cyclic guanosine 5' monophosphate formation in atherosclerotic human coronary artery and rabbit aorta. *J Clin Invest* 1987; 79: 170-4.
77. Forstermann V, Mugge A, Alheid U, Haverich A, Frolich JC - Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilation in atherosclerotic human coronary arteries. *Circ Res* 1988; 62: 185-90.
78. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL et al - Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315: 1046-51.
79. Werns SW, Walton JA, Hsia HH, Nabel EG, Sanz ML, Pitt B - Evidence of endothelial dysfunction in angiographically normal coronary arteries of patients with coronary artery disease. *Circulation* 1989; 79: 287-91.
80. Yasue H, Matsuyama K, Okumura K, Morikami Y, Ogawa H - Response of angiographically normal human coronary arteries to intracoronary injection of acetylcholine by age and segment. Possible role of early coronary atherosclerosis. *Circulation* 1990; 81: 482-90.
81. Zeiher AM, Drexler H, Wollschlaeger H, Saurbier B, Just H - Coronary vasomotion in response to sympathetic stimulation in humans: Importance of the functional integrity of the endothelium. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14: 1181-90.
82. Vita JA, Treasure CB, Ganz P, Cox DA, Fish D, Selwyn AD - Control of shear stress in the epicardial coronary arteries of humans: Impairment by atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14: 1193-9.
83. Gordon JB, Ganz P, Nabel EG et al - Atherosclerosis influences the vasomotor response of epicardial coronary arteries to exercise. *J Clin Invest* 1989; 83: 1946-52.
84. Zeiher AM, Drexler H, Wollschlaeger H, Just H - Modulation of coronary vasomotor tone in human. Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991; 83: 391-401.
85. Drexler H, Zeiher AM, Wollschlaeger H, Just H - Selective endothelial dysfunction in patients with hypercholesterolemia and angiographically normal coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15: 158A.
86. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG et al - Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1990; 81: 491-7.
87. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME et al - Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86: 228-34.
88. Dzau V - Emerging Concepts in Coronary Heart Disease - The Role of Cholesterol, Angiotensin and Insulin. *Advances in Cardiology: Management of Cardiovascular Risk-Factors*. Bristol-Myers Squibb Co 1991; 14-16.
89. Lüscher TF, Vanhoutte PM, Boulanger C, Dohi Y, Bühler FR - Endothelial dysfunction in hypertension. In: Rubanyi GM, ed - *Cardiovascular Significance of Endothelium-Derived Vasoactive Factors*. Mount Kisco, NY, Futura Publishing Co 1991: 199-221.
90. Pieper GM, Cross GJ - Endothelial dysfunction in diabetes. In: Rubanyi GM, ed - *Cardiovascular Significance of Endothelium-Derived Vasoactive Factors*. Mount Kisco, NY, Futura Publishing Co, 1991; 199-221.
91. Rangemark C, Wennmalm A - Cigarette smokers have impaired endothelium-independent but not endothelium dependent forearm vasodilatation. *J Vasc Res* 1992; 29: 186.
92. Strawn WB, Bondere G, Kaplan JR et al - Endothelial dysfunction in response to psychosocial stress in monkeys. *Circ Res* 1991; 68: 1270-9.
- 92a. Creager MA, Cooke J, Tucker JJ, Dzau VJ - Lipoproteins and endothelial dysfunction. In: Rubanyi GM, ed - *Cardiovascular Significance of Endothelium-Derived Vasoactive Factors*. Mount Kisco, NY, Futura Publishing Co 1991; 251-62.
93. Batlouni M, Armaganjian D - Como eu trato: espasmo coronário. *Rev Soc Cardiol ESP* 1993; 4: 61-8.
94. Evora PRB - O impacto científico da descoberta do óxido nítrico como vasodilatador e antitrombótico endógeno. *Arq Bras Cardiol* 1993; 61: 3-5.
95. Evora PRB, Pearson PJ, Schaff HV - Função endotelial e vasoespasmo coronariano após cirurgia cardíaca. *Arq Bras Cardiol* 1993; 61: 119-24.
96. Ross R - The pathogenesis of atherosclerosis - an update. *N Engl J Med* 1986; 314: 488-500.
97. Chait A - Progression of atherosclerosis: the cell biology. *Eur Heart J* 1987; 8(Suppl E): 15-22.
98. Vasile E, Simionescu M, Simionescu N - Visualization of the binding, endocytosis, and transcytosis of low-density lipoprotein in the arterial endothelium in situ. *J Cell Biol* 1983; 96: 1677-89.
99. Morel DM, DiCorleto PE, Chisholm GW - Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. *Arteriosclerosis* 1984; 4: 357-64.
100. Heinecke JW, Rosen H, Chait A - Iron and copper promote modification of low density lipoproteins by human arterial smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1986; 74: 1890-4.
- 100a. Regnstrom J, Nilsson J, Tornvall P, Landou C, Hamsten A - Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 1992; 339: 883-7.
101. Dzau V, Braunwald E - Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: A workshop consensus statement. *Am Heart J* 1991; 121: 1244-63.
102. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL - Beyond cholesterol - Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-24.
103. Harrison DG, Armstrong ML, Freiman PC, Heistad DD - Restoration of endothelium-dependent relaxation by dietary treatment of atherosclerosis. *J Clin Invest* 1987; 80: 1808-11.
104. Shimokawa H, Lam JYT, Chesebro JH, Bowie EJW, Vanhoutte PM - Effects of dietary supplementation with cod liver oil on endothelium-dependent response in porcine coronary arteries. *Circulation* 1987; 76: 898-905.
105. Osborne JA, Lento PH, Siegfried MR, Stahl GL, Lefer AM - Cardiovascular effects of acute hypercholesterolemia in rabbits. Reversal with lovastatin. *J Clin Invest* 1989; 83: 465-73.
106. Siegfried MR, Taylor III PA, Lefer AM - Reversal of cholesterol induced endothelial dysfunction by the HMG-CoA reductase inhibitor, lovastatin. *Circulation* 1990; 82(Suppl III): 35.
107. Van Gilst WH, Kroon AA, Egberts R, Weersink EGL, Leijten PA, Stalenhoef AFH - Coronary and aortic endothelial responses after chronic cholesterol lowering treatment with pravastatin. *Circulation* 1990; 82(Suppl III): 172.
108. Simon BC, Handenschild CC, Cohen RA - Restoration of endothelium-dependent relaxation in atherosclerotic arteries by probucol. *Circulation* 1990; 82(Suppl III): 171.
109. Brown G, Albers JJ, Fisher LD et al - Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *N Engl J Med* 1990; 323: 1289-98.
110. Siegfried MR, Lefer AM - Amelioration of coronary vascular endothelium dysfunction in hypercholesterolemic rabbits by the HMG-CoA reductase inhibitor, lovastatin. *Coron Art Dis* 1991; 2: 621-7.
111. Loscalzo J - Regression of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med* 1990; 323: 1337-9.
112. Barth JD, Arntzenius AC - Progression and regression of atherosclerosis, what roles for LDL-cholesterol and HDL-cholesterol: a perspective. *Eur Heart J* 1991; 12: 952-7.
113. Carew TE - Role of biological modified LDL in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1989; 64: 18G-22G.
114. Jacobs M, Plane F, Bruckdorfer KR - Native and oxidized low density lipoproteins have different inhibitory effects on endothelium-derived relaxing factor in rabbit aorta. *Br J Pharmacol* 1990; 100: 21-6.
115. Henry PD - Hyperlipidemic arterial dysfunction. *Circulation* 1990; 81: 697-9.
116. Henry PD, Bucay M - Effects of low-density lipoproteins and hypercholesterolemia on endothelium-dependent vasodilation. *Curr Opin Lipidol*, 1991; 2: 306-10.
117. Parthasarathy S, Young SG, Witztum JL, Pittman RC, Steinberg D - Probucol inhibits oxidative modification on low density lipoproteins. *J Clin Res* 1986; 77: 641-4.
118. Carew TE, Schwenke, Steinberg D - Antiatherogenic effect of probucol unrelated to its hypocholesterolemic effect: evidence that antioxidant in vivo can selectively inhibit LDL degradation in macrophage risk fatty streaks and slow the progression of atherosclerosis in the Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 7725-9.

119. Masana L, Bargaló T, Plana N, LaVile A, Casals I, Solà R - Effectiveness of probucol in reducing plasma low-density lipoprotein cholesterol oxidation in hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 1991; 68: 863-7.
120. Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Giovannucci E, Colditz GA, Willett WC - Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 1993; 328: 1450-6.
121. Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willett WC - Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *N Engl J Med* 1993; 328: 1444-9.
122. Krinsky NI - Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biol Med* 1989; 7: 617-35.
123. Eder HA, Gidez LJ - The clinical significance of the plasma high density lipoproteins. *Med Clin N Am* 1982; 66: 431-40.
124. Badimon JJ, Badimon L, Fuster V - Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fractions in the cholesterol-fed rabbit. *J Clin Invest* 1990; 85: 1234-41.
125. Kuhn FE, Mohler ER, Sattler LF, Reagan K, Lu DY, Rackley CE - Effects of high-density lipoprotein on acetylcholine-induced coronary vasoreactivity. *Am J Cardiol* 1991; 68: 1425-30.
126. Shimokawa H, Vanhoutte AM - Dietary cod-liver oil improves endothelium-dependent responses in hypercholesterolemic and atherosclerotic porcine arteries. *Circulation* 1988; 78: 1421-30.
127. Chobanian AV - Hypertensive drugs and atherogenesis: mechanisms and clinical implications. *J Clin Hypertens* 1986; 13: 1485-575.
128. Powell JS, Clozel JP, Muller KM et al - Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Science* 1989; 245: 186-8.
129. Pratt RE, Dzau VJ - Trophic effects of angiotensin on blood vessels and heart. In: Robertson JL, Nicholls MG, ed - *The Renin-Angiotensin System*. London, New York, Gower Medical Publishing, 1993, vol. 1:31.1-31.7.
130. Bennet T, Gardiner SM - Differential effects of various angiotensin-converting enzyme inhibitors. In: Robertson JL, Nicholls MG, ed - *The Renin-Angiotensin System*. London, New York, Gower Medical Publishing, 1993, vol. 2:98.1-98.16.
131. McMurray J, Chopra M, Smith WE, Dargie HJ - Antioxidant actions of-SH containing angiotensin converting enzyme inhibitors. *Eur Heart J* 1992; 13(Suppl): 1937.
132. Godfrey EG, Stewart J, Dargie HJ et al - Captopril inhibits oxidation of human low density lipoprotein cholesterol. *Eur Heart J*, 1992; 13(Suppl): 293.
133. Vanhoutte PM - Role of calcium and endothelium in hypertension, cardiovascular disease, and subsequent vascular events. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 19(Suppl 3): S6-S10.
134. Godfraind T - EDRF and cyclic GMP control gating of receptor-operated calcium channels in vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 1986; 126: 341-3.
135. Triggle DJ - Calcium channel antagonists: sites, control and mechanisms of actions relevant to the atherosclerotic process. In: Born GVR (ed), *Calcium Antagonism and Atherosclerosis*. London, Science Press Ltd 1991; 27-41.
136. Jackson CL, Bush RC, Bowyer DE - Inhibitory effects of calcium antagonists on balloon catheter-induced arterial smooth muscle cell proliferation and lesion size. *Atherosclerosis* 1988; 69: 115-22.
137. Strohschneider T, Betz E - Densitometry measurement of increased endothelial permeability in arteriosclerotic plaques and inhibition of permeability under the influence of two antagonists. *Atherosclerosis* 1989; 75: 135-44.
138. Yamada Y, Yokota M, Furumichi T, Furui H, Yamauchi K, Saito H - Protective effects of calcium channel blockers on hydrogen peroxide induced increases in endothelial permeability. *Cardiovasc Res* 1990; 24: 993-7.
139. Shridi F, Robak J - The influence of calcium channel blockers on superoxide anions. *Pharmacol Res Commun* 1988; 20: 13-21.
140. Sizinger H, Lupattelli G, Virgolini I et al - Isradipine, a calcium entry blocker, decreases vascular low-density lipoprotein entry in hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17: 546-50.
141. Gierd XJ - Hirsch AT, Cooke JP, Dzau VJ, Creager MA - L-arginine augments endothelium-dependent vasodilation in cholesterol-fed rabbits. *Circ Res* 1990; 67: 1301-8.
142. Rossitch E, Alexander E, Black P, Cooke JP - L-arginine normalizes endothelial functions in cerebral vessels of hypercholesterolemic rabbits. *J Clin Invest* 1991; 87: 1295-99.
143. Drexler H, Zeiher A, Meinzer K, Just H - Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic patients by L-arginine. *Lancet* 1991; 338: 1546-50.
144. Tanner FC, Noll G, Boulanger CM, Luscher TF - Oxidized low density lipoproteins inhibit relaxations of porcine coronary arteries: role of scavenger receptor and endothelium-derived nitric oxide. *Circulation* 1991; 83: 2012-20.